

## 伊贝母多糖的提取工艺优化及结构表征<sup>△</sup>

阿衣吐逊·阿布都外力<sup>1,2\*</sup>, 帕尔哈提·柔孜<sup>3</sup>, 高彦华<sup>1</sup>, 排合尔丁·木台力甫<sup>1,2</sup>, 热合巴提·努尔夏提<sup>1,2</sup>, 宁慧霞<sup>1</sup>, 阿布力米提·伊力<sup>1#</sup>(1.中国科学院新疆理化技术研究所新疆特有药用资源利用重点实验室, 乌鲁木齐 830011; 2.中国科学院大学, 北京 100049; 3.新疆农业大学食品科学与药学学院, 乌鲁木齐 830052)

中图分类号 R943;R629.12 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)03-0276-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.03.05

**摘要** 目的:优化伊贝母多糖(FPSP)的提取工艺,并对其结构进行研究。方法:采用Box-Behnken设计-响应面法,以FPSP产率为响应值,对FPSP提取工艺中的料液比、提取温度、提取时间进行优化。通过紫外吸收光谱法、傅里叶红外光谱(FTIR)法、气相色谱-质谱联用(GC-MS)法、刚果红染色法、扫描电子显微镜(SEM)观察、X射线衍射(XRD)法及热化学分析等表征手段对FPSP进行结构初探。结果:FPSP提取的最优工艺参数为料液比1:28(g/mL)、提取温度94℃、提取时间2.5h,产率为16.25%( $n=3$ ),与理论产率(16.58%)的误差为0.33%。FPSP是由物质的量之比为1:58.02:0.73的木糖、葡萄糖、半乳糖及微量甘露糖组成,在280nm波长附近有弱吸收峰,属于 $\alpha$ -构型的吡喃多糖,存在三螺旋结构,其表面呈显不规则颗粒堆积而成的网状结构,同时存在晶体与非晶体结构,具有较好的热稳定性。结论:优化后的FPSP提取工艺合理、产率较高,可为伊贝母资源的进一步开发利用提供参考。

**关键词** 伊贝母多糖;Box-Behnken设计;响应面法;结构表征;提取工艺

### Study on Extraction Technology Optimization and Structural Characterization of *Fritillaria pallidiflora* Polysaccharides

Ayituxun·Abuduwaili<sup>1,2</sup>, Paerhati·Rouzi<sup>3</sup>, GAO Yanhua<sup>1</sup>, Paiheerding·Mutailifu<sup>1,2</sup>, Rehebaty·Nuerxiati<sup>1,2</sup>, NING Huixia<sup>1</sup>, Abulimiti·Yili<sup>1</sup> (1.Key Laboratory of Xinjiang Indigenous Medicinal Plants Resource Utilization, Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, China; 2. University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3.College of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of *Fritillaria pallidiflora* polysaccharides (FPSP), and to study its structure. METHODS: Using the yield of FPSP as response value, Box-Behnken design-response surface methodology was adopted to optimize solid-liquid ratio, extraction temperature and extraction time of FPSP extraction technology. Structural properties of FPSP was characterized by UV spectrum, FTIR, GC-MS, Congo red staining, SEM, XRD and thermogravimetric analysis. RESULTS: The optimal technology parameters of FPSP were solid-liquid ratio of 1:28 (g/mL), extraction temperature of 94℃, extraction time of 2.5 h; the yield of FPSP was 16.25% ( $n=3$ ), the error of which to theoretical yield (16.58%) was 0.33%. FPSP contained xylose, glucose and galactose with a molar ratio of 1:58.02:0.73, and trace amount of mannose; there was a weak absorption peak near the wavelength of 280 nm; belonged to  $\alpha$ -configuration pyranopolysaccharide. FPSP was in triple-helical structure. The surface of FPSP was a network structure formed by irregular particles. FPSP had both crystalline and amorphous structures. FPSP had good thermostability. CONCLUSIONS: The optimized extraction technology of FPSP is reasonable, and has high extraction yield. The research might provide reference for the further development and utilization of *F. pallidiflora*.

**KEYWORDS** *Fritillaria pallidiflora* polysaccharide; Box-Behnken design; Response surface methodology; Structural characterization; Extraction technology

伊贝母(*Fritillaria pallidiflora* Schrenk)是多年生草本植物,属于百合科(Liliaceae)贝母属(*Fritillaria*)植物

<sup>△</sup> 基金项目:国家自然科学基金联合基金重点支持项目(No. U1403201);中科院西部之光-西部青年学者A类项目(No.2017-XBQNXZ-A-004)

\* 博士研究生。研究方向:天然产物的提取分离及活性成分筛选。电话:0991-3835708。E-mail: ayituxunabuduwaili14@mailsucas.ac.cn

# 通信作者:研究员,博士,博士生导师。研究方向:天然药物物质基础。电话:0991-3835708。E-mail: abu@ms.xjba.ac.cn

的干燥鳞茎,已收载于2015年版《中国药典》<sup>[1]</sup>及《新疆药用植物志》<sup>[2]</sup>等。伊贝母中主要化学成分为生物碱<sup>[3]</sup>、甾体皂苷<sup>[4]</sup>、蛋白<sup>[5]</sup>、多糖<sup>[6]</sup>等。有研究表明,伊贝母具有清热、润肺、止咳、化痰、解毒等功效;能够治疗支气管炎、肺结核、哮喘、痰喘、胃溃疡、十二指肠溃疡、黄疸、痢疾及疮毒等疾病<sup>[7-9]</sup>。

大量研究表明,天然药用植物来源的多糖具有多种生物活性,包括抗氧化<sup>[10]</sup>、抗肿瘤<sup>[11]</sup>、降血糖<sup>[12]</sup>、抑菌<sup>[13]</sup>、

改善机体免疫功能<sup>[14]</sup>、调控肠道菌群<sup>[15]</sup>等。长期以来,植物多糖以其广泛的药效作用和极低的细胞毒性,在食品、医药、化妆品和环境等领域具有广阔的应用范围。

前期有关伊贝母的研究主要集中在其生物碱类成分的分析上<sup>[9]</sup>,而有关其多糖成分的提取分离和结构鉴定及其相关生物活性的研究报道较少。已有研究表明,多糖的生物活性与其化学结构密切相关<sup>[6]</sup>。因此,探究伊贝母中具有生物活性的多糖成分具有实际意义。本研究采用 Box-Behnken 设计-响应面法优化伊贝母多糖(FPSP)的提取工艺,利用紫外吸收光谱(UV)法、傅里叶红外光谱(FTIR)法、气相色谱-质谱联用(GC-MS)法、刚果红染色法、扫描电子显微镜(SEM)观察、X射线衍射(XRD)法及热化学分析等表征手段对 FPSP 进行结构初探,为其多糖类生物大分子化合物的进一步开发提供理论依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

FDU-2100 型冷冻干燥机(日本 Eyela 公司);2550 型紫外分光光度计(日本 Shimadzu 公司);CR22N 型高速冷冻离心机(日本 Hitachi 公司);F-305 型旋转蒸发器(瑞士 Buchi 公司);7890A-5975C 型 GC-MS 仪(美国 Agilent 公司);NICOLET 6700 型 IR 仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);SUPRA 55VP 型 SEM 仪(德国 Zeiss 公司);STA449F3 型热分析仪(德国 Netzsch 公司);D8 Advance 型 XRD 仪(德国 Bruker 公司)。

### 1.2 药品与试剂

伊贝母于 2016 年 6 月采集于新疆伊犁,经新疆药物研究所何江研究员鉴定为百合科贝母属植物伊贝母(*Fritillaria pallidiflora* Schrenk)的干燥鳞茎(标本保存在新疆药物研究所标本室,标本号为 81013);蛋白测量试剂盒(美国 Thermo Fisher Scientific 公司,批号:TH269579);葡萄糖标准品(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号:L1431014,分析纯);半乳糖醛酸标准品(上海纯优生物科技有限公司,批号:RT19U1015,纯度:≥98%);间羟基联苯(上海源叶生物科技有限公司,批号:M23M8E32272,纯度:>97%);阿拉伯糖、木糖、鼠李糖、半乳糖、甘露糖、蒽酮、硫酸、石油醚、氢氧化钠、乙酸酐、吡啶、盐酸羟胺、刚果红、甲醇、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠及铁氰化钾等试剂均为国产分析纯或实验室常用规格;水为蒸馏水。

## 2 方法

### 2.1 FPSP 的提取

伊贝母干燥鳞茎经粉碎、过筛(40 目)后,用石油醚脱脂 3 次,得到的脱脂粉以水为溶剂在一定的料液比、提取温度及提取时间条件下进行提取;过滤提取液,以 6 462×g 离心 10 min(以下条件同),用旋转蒸发器浓缩上清液,再次离心;取滤液,加 4 倍体积的冰乙醇沉淀,4 ℃放置 12 h,离心,冻干,得到 FPSP。以 FPSP 干质量/药材质量×100% 计算产率(%)。

### 2.2 指标测定

2.2.1 多糖含量测定 按照标准 DB12/T 884-2019<sup>[6]</sup>,采用蒽酮-硫酸法,以葡萄糖标准品为标准物质,测定 FPSP 中多糖含量。

2.2.2 糖醛酸含量测定 按照标准 NY/T 2016-2011<sup>[17]</sup>,采用间羟基联苯法,以半乳糖醛酸标准品为标准物质,测定 FPSP 中糖醛酸含量。

2.2.3 蛋白含量测定 采用二喹啉甲酸(BCA)法,按照蛋白测量试剂盒说明书进行操作,测定 FPSP 中蛋白含量。

### 2.3 提取工艺优化

根据 Box-Behnken 原理设计试验,选取料液比(A)、提取温度(B)、提取时间(C)3 个因素为自变量,以 FPSP 产率为响应值(Y),进行 3 因素 3 水平的响应面试验分析,得到 FPSP 提取的适宜工艺参数,并利用 Design-Expert 8.0.6 软件对试验数据进行回归分析,拟合响应值与各因素的数学回归模型。因素与水平见表 1。

表 1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels of Box-Behnken design

因素	水平		
	-1	0	1
A(g/mL)	1:20	1:30	1:40
B, ℃	80	90	100
C, h	2	2.5	3

### 2.4 FPSP 的结构表征

2.4.1 UV 法 配制质量浓度为 1 mg/mL 的 FPSP 水溶液,用紫外分光光度计在 200~400 nm 波长范围内进行全波长扫描。

2.4.2 FTIR 法 取适量 FPSP,采用 KBr 压片法,用 IR 仪在 4 000~400 cm<sup>-1</sup>波数范围内进行分析。

2.4.3 GC-MS 法 参考文献[6]所述方法,称取 5.0 mg FPSP,溶解于 4 mL 的 2 mol/L 三氟乙酸中,置于 GC 顶空进样瓶中,在鼓风干燥箱中以 110 ℃ 条件密闭水解反应 6 h。反应结束后,在酸水解的样品中加入 5 mL 甲醇,旋蒸蒸干,重复 3 次,除掉剩余的三氟乙酸。在各单糖标准品和酸水解完全的 FPSP 中分别加入 8 mg 盐酸羟胺及 0.5 mL 吡啶,搅拌溶解后置于 90 ℃ 水浴中,反应 30 min。取出冷却至室温,再加入 0.5 mL 乙酸酐,置于 90 ℃ 水浴中反应 30 min 后,氮吹仪吹干,加入 1.0 mL 氯仿,产物用于 GC-MS 分析。GC-MS 条件:毛细管色谱柱为 OV-1701(30 cm×0.32 mm,0.25 μm),检测器为火焰离子化检测器(FID),检测器温度为 270 ℃,进样口温度为 250 ℃,程序升温(起始温度为 160 ℃,以 5 ℃/min 升至 190 ℃,保持 5 min,同样速度升温至 230 ℃),载气为氮气,进样体积为 1 μL。

2.4.4 刚果红染色 参考文献[6]所述方法,配制质量浓度为 2 mg/mL 的 FPSP 水溶液和 0.2 mmol/L 的刚果红试剂。分别量取 6 份 1 mL 的 FPSP 水溶液于离心管中,加入不同体积的 1 mol/L 的氢氧化钠溶液和水,摇匀,添加 1 mL 刚果红试剂,使溶液中氢氧化钠的最终浓度分别为 0.5、0.4、0.3、0.2、0.1、0.05 mol/L。用紫外分光光度计

在 400~700 nm 波长范围内进行扫描,记录最大吸收波长( $\lambda_{\max}$ )。以水代替氢氧化钠溶液作为空白组,以刚果红试剂与不同浓度的氢氧化钠溶液为对照组,同法操作。

2.4.5 SEM 观察 取适量干燥 FPSP,采用离子溅射镀膜工艺镀一层铂金导电膜,用 SEM 镜观察样品表面形态。

2.4.6 XRD 参考文献[18]所述方法,采用 XRD 仪对 FPSP 的晶体结构进行测定,设  $2\theta$  为  $5^\circ\sim 60^\circ$ ,步长为  $0.01^\circ$ ,步速为  $0.1\text{ s}$ 。

2.4.7 热化学分析 参考文献[19]所述方法,称取 FPSP 5 mg,在氮气气氛下,以流量为  $50\text{ mL/min}$ 、升温速度为  $10^\circ\text{C/min}$ 、 $25\sim 600^\circ\text{C}$  温度范围内对 FPSP 进行热重分析法(TG)、微分热重分析法(DTG)和差示扫描量热法(DSC)分析。

## 2.5 统计学分析

试验均平均操作 3 次,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。使用 Origin 8.0.6 软件进行单因素方差分析。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 FPSP 提取工艺

3.1.1 Box-Behnken 设计与结果 Box-Behnken 设计与结果见表 2。

表 2 Box-Behnken 设计与结果

Tab 2 Design and results of Box-Behnken

试验号	A(g/mL)	B, °C	C, h	FPSP 产率, %
1	1:20	90	3	16.01
2	1:20	80	2.5	9.33
3	1:30	100	3	12.21
4	1:30	90	2.5	16.83
5	1:30	80	2.0	10.81
6	1:20	90	2.0	13.42
7	1:30	80	3.0	11.71
8	1:30	100	2.0	15.62
9	1:30	90	2.5	16.22
10	1:40	90	2.0	14.84
11	1:40	90	3.0	13.62
12	1:30	90	2.5	15.61
13	1:20	100	2.5	15.67
14	1:40	100	2.5	13.81
15	1:40	80	2.5	13.27
16	1:30	90	2.5	16.62
17	1:30	90	2.5	16.35

3.1.2 回归模型拟合结果与方差分析结果 FPSP 产率与各因素的数学回归模型拟合结果为: $Y = 16.33 + 0.14A + 1.48B - 0.097C - 1.45AB - 0.95AC - 0.99BC - 0.67A^2 - 2.64B^2 - 1.19C^2$ 。方差分析结果显示,该模型回归极显著( $P < 0.01$ ),失拟项不显著( $P > 0.05$ ), $R^2 = 0.948 0$ ,提示该模型与试验拟合较好,试验方法可靠,可准确预测试验响应值。该模型中, $B$ 、 $AB$  及  $B^2$  的  $P$  值均小于  $0.01$ , $AC$ 、 $BC$  及  $C^2$  的  $P$  值均小于  $0.05$ ,表明上述因素对响应值有显著影响。在试验范围内对所选因素影响大小排序为  $B > A > C$ ,即提取温度  $>$  料液比  $>$  提取时间。方差分

析结果见表 3。

表 3 方差分析结果

Tab 3 Analysis result of variance

方差来源	偏差平方和	自由度	均方差	F	P
模型	73.72	9	8.19	14.19	0.001 0
A	0.15	1	0.15	0.27	0.621 5
B	17.49	1	17.49	30.29	0.000 9
C	0.076	1	0.076	0.13	0.727 4
AB	8.41	1	8.41	14.56	0.006 6
AC	3.63	1	3.63	6.28	0.040 6
BC	3.90	1	3.90	6.75	0.035 5
A <sup>2</sup>	1.86	1	1.86	3.23	0.115 4
B <sup>2</sup>	29.36	1	29.36	50.84	0.000 2
C <sup>2</sup>	5.94	1	5.94	10.29	0.014 9
残差误差	4.04	7	0.58		
失拟项	3.18	3	1.06	4.90	0.079 5
纯误差	0.86	4	0.22		
总和	77.76	16			

3.1.3 响应面优化结果 采用 Design-Expert 8.0.6 软件参考回归模型得出 FPSP 提取的最优工艺参数为料液比 1:27.90(g/mL)、提取温度  $93.58^\circ\text{C}$ 、提取时间 2.45 h。在此条件下,FPSP 产率的预测值为 16.58%。为了验证响应面法的可行性,参考模型给出的最优条件,结合实际生产可操作性等因素,将最优提取工艺参数调整为料液比 1:28(g/mL)、提取温度  $94^\circ\text{C}$ 、提取时间 2.5 h。在此条件下进行 3 组平行试验,结果 FPSP 产率的平均值为 16.25% ( $n=3$ ),与预测值的相对误差为 0.33%,表明该工艺参数准确可靠。各因素交互作用对 FPSP 产率的响应面等高线图见图 1。

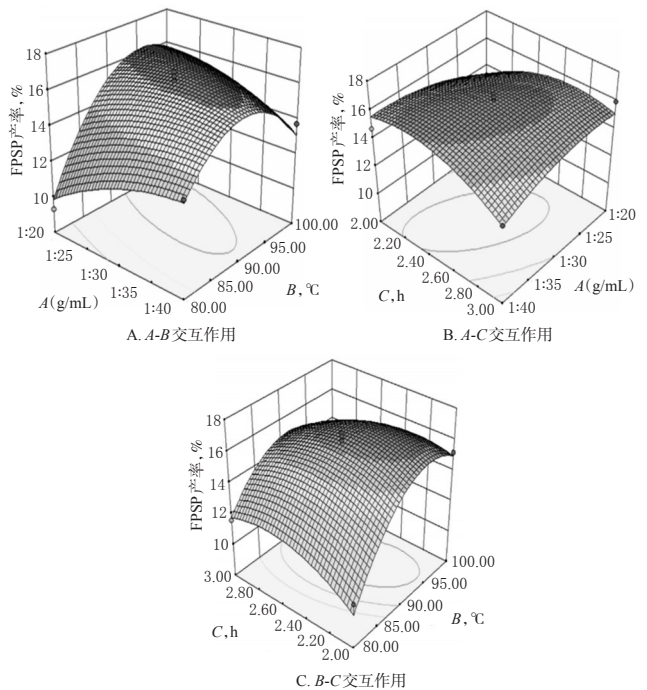


图 1 各因素交互作用对 FPSP 产率的响应面等高线图  
Fig 1 Response surface contour plots for interactive effects of factors on the yield of FPSP

按优化后的工艺提取 FPSP,对其进行质量评价。

按“2.2”项下方法进行检测。结果,FPSP多糖含量为(50.70±0.23)%、糖醛酸含量为(6.85±0.15)%、蛋白含量为(3.05±0.12)%( $n=3$ )。

### 3.2 结构表征

3.2.1 UV检测结果 FPSP在280 nm波长附近有弱吸收峰,说明其可能含有蛋白质。

3.2.2 FTIR检测结果 FTIR图谱显示,FPSP在3 423  $\text{cm}^{-1}$ 左右的吸收峰是羟基O—H伸缩振动峰,在2 923  $\text{cm}^{-1}$ 左右的吸收峰是C—H伸缩振动峰,在1 629  $\text{cm}^{-1}$ 左右的吸收峰是多糖水合振动峰<sup>[20]</sup>,在1 384  $\text{cm}^{-1}$ 左右的吸收峰是C—H面内弯曲振动信号峰<sup>[21]</sup>,在1 200~1 000  $\text{cm}^{-1}$ 之间的3个吸收峰是C—O键伸缩振动吸收峰,可推测FPSP有吡喃糖环结构<sup>[22]</sup>;在850  $\text{cm}^{-1}$ 附近的吸收峰是 $\alpha$ -糖苷的特征峰<sup>[23]</sup>,可推测FPSP是属于 $\alpha$ -构型的吡喃多糖。FPSP的FTIR图谱见图2。

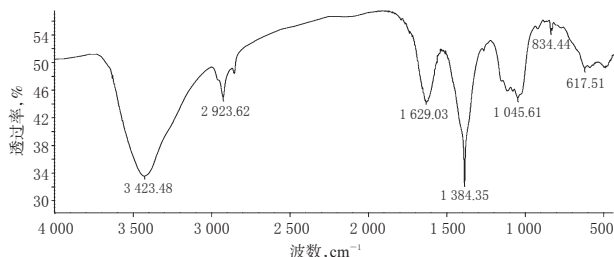


图2 FPSP的FTIR图谱

Fig 2 FTIR spectra of FPSP

3.2.3 GC-MS检测结果 通过峰面积归一化确定FPSP由物质的量之比为1:58.02:0.73的木糖、葡萄糖及半乳糖组成,还含有微量的甘露糖,主要成分是葡萄糖。

3.2.4 刚果红染色结果 分子中含有三螺旋结构的多糖在碱性条件下能够与刚果红试剂反应形成络合物,且该络合物的 $\lambda_{\text{max}}$ 会发生红移<sup>[24]</sup>。本试验结果显示,当氢氧化钠浓度为0~0.5 mol/L时,与对照组(刚果红)的 $\lambda_{\text{max}}$ 比较,试验组(FPSP-刚果红络合物)的 $\lambda_{\text{max}}$ 发生了明显的红移现象,提示FPSP中存在三螺旋结构。不同氢氧化钠浓度下的刚果红和FPSP-刚果红络合物的 $\lambda_{\text{max}}$ 曲线见图3。

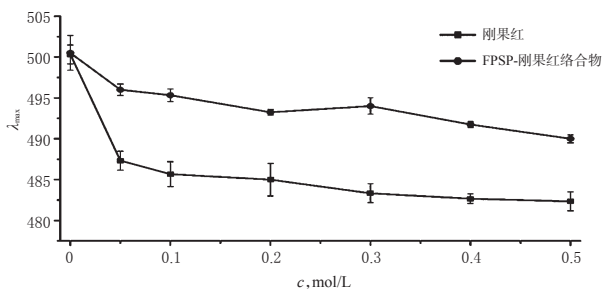


图3 不同氢氧化钠浓度下的刚果红和FPSP-刚果红络合物的 $\lambda_{\text{max}}$ 曲线图

Fig 3  $\lambda_{\text{max}}$  curves of Congo red and FPSP-Congo red complex under various concentrations of NaOH solution

3.2.5 SEM观察结果 放大200~10 000倍的SEM图显示,FPSP大多数表面呈显不规则颗粒堆积而成的网状结构,且颗粒表面基本光滑,颗粒间几乎无空隙,说明FPSP分子间聚合较为完全,相互排斥力较弱,吸引力较强。FPSP的SEM图见图4。

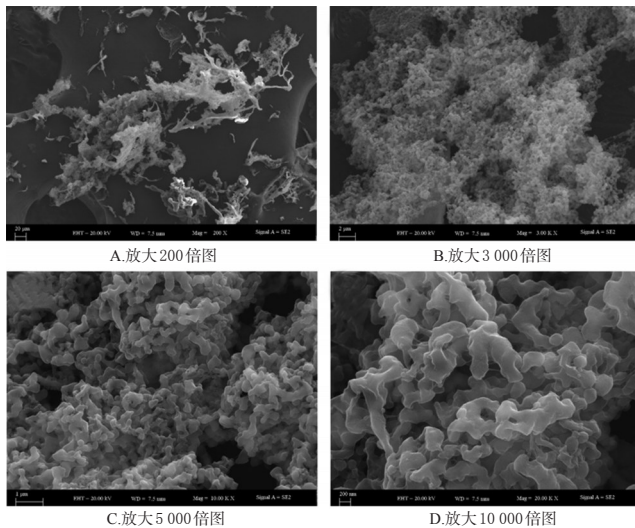


图4 FPSP的SEM图

Fig 4 SEM micrographs of FPSP

3.2.6 XRD分析结果 在20°左右,FPSP有一个强度较大的衍射峰,说明FPSP中同时存在晶体与非晶体结构。FPSP的XRD图见图5。

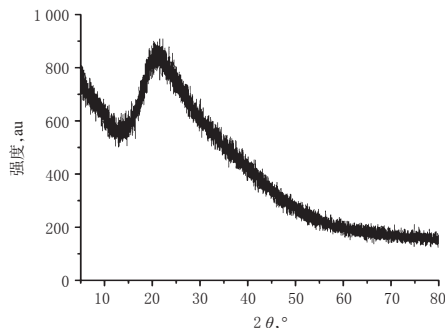


图5 FPSP的XRD图

Fig 5 XRD diagram of FPSP

3.2.7 热化学分析结果 TG分析结果显示,在25~600  $^{\circ}\text{C}$ 温度范围内,FPSP存在2个失重区,第一个失重区出现在100  $^{\circ}\text{C}$ 左右,FPSP质量损失了4.55%,分析可能是由于失去结合水而引起;第二个失重区出现在250~600  $^{\circ}\text{C}$ 温度范围内,分析可能是因糖苷键断裂而发生化学裂解导致的<sup>[25-26]</sup>,在这一阶段失去大部分质量。DTG分析结果显示,当温度为263.2  $^{\circ}\text{C}$ 时,FPSP开始发生化学裂解反应;当温度为288.4  $^{\circ}\text{C}$ 时,FPSP裂解速度达到最大值(9.32%/min);当温度达到661.4  $^{\circ}\text{C}$ 时,FPSP剩余质量为原来的24.78%。DSC分析结果显示,FPSP分别在295.2、580.4  $^{\circ}\text{C}$ 时有2个放热峰,说明FPSP有良好的热化学稳定性。FPSP的热化学分析图见图6。

## 4 讨论

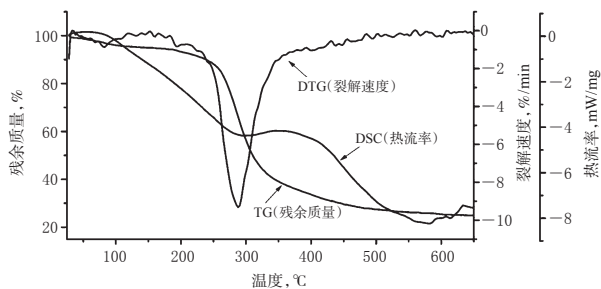


图6 FPSP的热化学分析图

Fig 6 Thermogravimetric analysis diagram of FPSP

有研究报道,植物来源多糖的提取率受料液比、提取温度及提取时间等因素的影响较大<sup>[27]</sup>,因此需经过相关参数的优化来确定最优提取工艺。本研究采用Box-Behnken设计-响应面法对FPSP的提取工艺进行了优化,结果,当提取温度为94℃、提取时间为2.45h、料液比为1:28(g/mL)时,FPSP产率为16.25%,显著高于姜峻等<sup>[28]</sup>优化的浙贝母多糖提取工艺产率5.97%和陈林等<sup>[29]</sup>优化的太白贝母多糖提取工艺产率1.267%。

通过GC-MS分析得出,FPSP是由物质的量之比为1:58.02:0.73的木糖、葡萄糖及半乳糖及微量甘露糖等组成的杂多糖。Rozi P等<sup>[6]</sup>研究得出,以水、酸及碱为溶剂提取所得的FPSP由不同比例的鼠李糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖及半乳糖组成。Abuduwaili A等<sup>[30]</sup>用超声、酶法及超声加酶法提取所得的伊贝母多糖单糖组成分析同样得出其主要成分为葡萄糖。刘春红等<sup>[22]</sup>报道,平贝母多糖主要由木糖、葡萄糖、半乳糖组成,各单糖物质的量之比为5:1:1。Pan F等<sup>[31]</sup>研究得出,瓦布贝母多糖由物质的量之比为2.62:5.59:10.00:0.76:9.38的甘露糖、半乳糖酸、半乳糖、木糖、阿拉伯糖组成。由此得出,同为贝母属的植物在单糖组成方面存在一定的差异。通过TG分析得出,从263.2℃开始FPSP的质量损失幅度较大,说明此温度后FPSP开始发生化学裂解反应;与酸碱提取的伊贝母多糖<sup>[6]</sup>相比,本研究所得FPSP具有较好的热稳定性。

综上所述,本研究利用Box-Behnken设计-响应面法优化得到FPSP最优提取工艺。通过UV法、FTIR法、GC-MS法、刚果红染色法、SEM观察、XRD法及热化学分析表征得出,FPSP是由物质的量之比为1:58.02:0.73的木糖、葡萄糖、半乳糖及微量甘露糖等组成的杂多糖,属于典型的 $\alpha$ -构型的吡喃多糖,表面结构呈显不规则颗粒堆积而成的网状结构,同时具有较好的热稳定性。本研究旨在为伊贝母资源的充分利用和科学应用提供技术支撑,为将伊贝母作为原料开发成药物或保健品提供物质基础参考。

### 参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:141-142.  
[2] 中国科学院新疆生物土壤沙漠研究所.新疆药用植物志

[M].乌鲁木齐:新疆人民出版社,1984:184-185.

[3] LI Y, YILI A, LI J, et al. New isosteroidal alkaloids with tracheal relaxant effect from the bulbs of *Fritillaria pallidiflora* Schrenk[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26(8): 1983-1987.  
[4] SHEN S, LI GY, HUANG J, et al. Chemical constituents from *Fritillaria pallidiflora* Schrenk[J]. *Biochem Syst Ecol*, 2012.DOI: 10.1016/j.bse.2012.07.034.  
[5] MIJITI Y, ROZI P, WAILI A, et al. Isolation of antimicrobial peptides from *Fritillaria pallidiflora*[J]. *Chem Nat Comp*, 2017, 53(6): 1144-1147.  
[6] ROZI P, ABUDUWAILI A, MUTAILIFU P, et al. Sequential extraction, characterization and antioxidant activity of polysaccharides from *Fritillaria pallidiflora* Schrenk[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019.DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.03.029.  
[7] 刘勇民.维吾尔药志[M].乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社, 1999:59-66.  
[8] 刘筱虹,王佛华.贝母研究概况[J].河北中医药学报, 1997, 12(4):35-37.  
[9] HAO DC, GU XJ, XIAO PG, et al. Phytochemical and biological research of *Fritillaria* medicinal resources[J]. *Chin J Nat Med*, 2014, 11(4): 330-344.  
[10] 赵幻希,修洋,焦丽丽,等.生晒参、红参中中性多糖的分级及体外抗氧化活性研究[J].中国药房, 2017, 28(7): 943-947.  
[11] 刘燕琳,刘海燕,常金,等.桑黄多糖对肉瘤S180细胞体内外的抑瘤作用[J].中国药房, 2017, 28(22):3069-3072.  
[12] WU GJ, LIU D, WAN YJ, et al. Comparison of hypoglycemic effects of polysaccharides from four legume species [J]. *Food Hydrocolloid*, 2019.DOI: 10.1016/j.foodhyd.2018.12.035.  
[13] 翟娅菲,张星稀,相启森,等.南瓜多糖的体外抑菌活性[J].食品研究与开发, 2019, 40(10):70-74.  
[14] CAO J, TANG D, WANG Y, et al. Characteristics and immune-enhancing activity of pectic polysaccharides from sweet cherry (*Prunus avium*) [J]. *Food Chem*, 2018.DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.01.145.  
[15] YIN HM, WANG SN, NIE SP, et al. Coix polysaccharides: gut microbiota regulation and immunomodulatory [J]. *Bioact Carbohydr Dietary Fibre*, 2018.DOI:10.1016/j.bcdf.2018.04.002.  
[16] 天津市市场监督管理委员会.百合磷茎中多糖的含量测定紫外/可见分光光度法 DB12/T884-2019[S]. 2019-05-01.  
[17] 中华人民共和国农业部.水果及其制品中果胶含量的测定分光光度法 NY/T2016-2011[S]. 2011-12-01.  
[18] PATEL MK, TANNA B, MISHRA A, et al. Physicochemical characterization, antioxidant and anti-proliferative activities of a polysaccharide extracted from psyllium (*P. ovata*) leaves[J]. *Int J Biol Macromol*, 2018.DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.06.139.

# 基于2015年版《中国药典》(一部)分析含甘草止咳方剂的用药规律<sup>Δ</sup>

沈莹\*,樊建,孟祥才\*(黑龙江中医药大学药学院,哈尔滨 150040)

中图分类号 R282;R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)03-0281-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.03.06

**摘要** 目的:探索含甘草止咳方剂的组方用药规律,为止咳新药研发提供参考。方法:从2015年版《中国药典》(一部)中收集整理含甘草的止咳方剂,将方名、组成、性味归经和功能主治等信息录入Excel 2018软件并建立数据库,统计中药频数;应用SPSS Statistics 23.0软件对含甘草止咳方剂中的高频中药(频数≥15)进行聚类分析;采用SPSS Modeler 18.0软件中的Apriori算法与关联规则对含甘草止咳方剂中高频中药的药物组合进行统计分析(设置支持度≥15%、置信度≥70%、提升度≥1),并总结含甘草止咳新方。取60只小鼠分为模型组(生理盐水)、阳性组(磷酸可待因片,5 mg/kg)和新方低、中、高剂量组(1.17、5.83、11.67 g/kg,以新方浸膏计),每组12只,每天灌胃给药1次,连续给药7 d。末次给药1 h后,采用氨水将各组小鼠致咳30 s后,记录小鼠的咳嗽潜伏期及2 min内咳嗽频数,并计算咳嗽抑制率。结果:共纳入含甘草的止咳方剂73首,涉及中药194种,高频中药11味(甘草、桔梗、苦杏仁、陈皮、麻黄、石膏、黄芩、薄荷、半夏、茯苓和前胡),药味以辛为主,多归肺经;高频中药可聚为5类;二项关联规则7项(如麻黄→苦杏仁、石膏→苦杏仁等),三项关联规则10项(如石膏-苦杏仁→麻黄、陈皮-桔梗→苦杏仁等);含甘草止咳新方为甘草、桔梗、苦杏仁、麻黄、陈皮、石膏(质量比1:2:2:2:3:4)。与模型组比较,阳性组和新方低、中、高剂量组小鼠咳嗽潜伏期均显著延长,2 min内咳嗽频数均显著减少( $P<0.01$ );与阳性组比较,新方低、中剂量组小鼠咳嗽潜伏期显著缩短,2 min内咳嗽频数显著增加( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),但新方高剂量组咳嗽潜伏期、2 min内咳嗽频数、咳嗽抑制率差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。结论:本研究在分析含甘草止咳方剂的用药规律基础上总结的含甘草的止咳新方具有良好的止咳效果,后续可为止咳新药的研发提供参考。

**关键词** 甘草;止咳;数据挖掘;用药规律;新方剂;小鼠

- [19] ZHANG WJ, HUANG J, WANG W, et al. Extraction, purification, characterization and antioxidant activities of polysaccharides from *Cistanche tubulosa*[J]. *Int J Biol Macromol*, 2016. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.08.079.
- [20] 刘春红,马宇,何忠梅,等.平贝母多糖的分离纯化及抗氧化活性研究[J]. *食品科学*, 2011, 32(21):29-33.
- [21] 陈树俊,李佳益,王翠连,等.黄梨渣多糖的提取、分离纯化和结构鉴定[J]. *食品科学*, 2018, 39(20):278-286.
- [22] GONG GP, ZHAO JX, WANG CJ, et al. Structural characterization and antioxidant activities of the degradation products from *Porphyra haitanensis* polysaccharides[J]. *Process Biochem*, 2018. DOI: 10.1016/j.procbio.2018.05.022.
- [23] XU WT, ZHANG FF, LUO YB, et al. Antioxidant activity of a water-soluble polysaccharide purified from *Pteridium aquilinum*[J]. *Carbohydr Res*, 2009, 344(2):217-222.
- [24] CAO JJ, LV QQ, ZHANG B, et al. Structural characterization and hepatoprotective activities of polysaccharides from the leaves of *Toona sinensis* (A. Juss) Roem[J]. *Carbohydr Polym*, 2019. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.02.031.
- [25] SHEN DK, GU S, BRIDGWATER AV. Study on the pyrolytic behaviour of xylan-based hemicellulose using TG-FTIR and Py-GC-FTIR[J]. *J Anal Appl Pyrol*, 2010, 87(2):199-206.
- [26] 景永帅,张丹参,吴兰芳,等.远志多糖的分离纯化、结构特征及生物活性[J]. *食品科学*, 2017, 38(17):126-131.
- [27] 宋佳敏,王鸿飞,孙朦,等.响应面法优化金蝉花多糖提取工艺及抗氧化活性分析[J]. *食品科学*, 2018, 39(4):275-281.
- [28] 姜峻,陈蕾俊,王晓梅,等.正交试验优化浙贝母多糖的提取工艺[J]. *现代食品科技*, 2011, 27(7):823-825.
- [29] 陈林,唐华丽,韩林,等.响应面法优化水浴提取太白贝母粗多糖工艺[J]. *湖北农业科学*, 2016, 55(3):720-724.
- [30] ABUDUWAILI A, ROZI P, MUTAILIFU P, et al. Effects of different extraction techniques on physicochemical properties and biological activities of polysaccharides from *Fritillaria pallidiflora* Schrenk[J]. *Process Biochem*, 2019. DOI: 10.1016/j.procbio.2019.05.020.
- [31] PAN F, SU TJ, LIU Y, et al. Extraction, purification and antioxidation of a polysaccharide from *Fritillaria unibracteata* var. *wabuensis*[J]. *Int J Biol Macromol*, 2018. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.02.070.

Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81573523);黑龙江省中医药科研项目(No.2018h1jzyzypc-14)

\* 博士研究生。研究方向:生物技术与生药资源开发。E-mail: 18800460316@163.com

# 通信作者:教授,博士生导师。研究方向:药用植物栽培与生药质量。E-mail: Mengxiangcai000@163.com

(收稿日期:2019-10-16 修回日期:2019-12-12)

(编辑:邹丽娟)